Aus dem Physiologischen Institut der Universität München
(Chemische Abteilung. Professor A. Hahn.)

Über die Darstellung der Zwischenprodukte der Glykolyse im Muskel und in der Hefe

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anton Stieß
aus Langenbruck

1938

Druckerei u. Verlag wissenschaftlicher Werke Konrad Triltsch, Würzburg

Referent:

Prof. Dr. Broemser.

Physiolog. Institut München.

Gedruckt mit Genehmigung der Med. Fakultät
der L.-M.-Universität München.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548311_0140

Einleitend ist eine kurze Darstellung der glykolytischen Abbauvorgänge nötig, deren Klärung vor allem G. EMBDEN zu danken ist.

Die Glykolyse im Muskel zerfällt in 2 Hauptphasen:

1. Die anaerobe Phase
   Glykogen — — — — Milchsäure. Sauerstoffatmosphäre hemmt diese Vorgänge.
2. Die aerobe Phase, die durch Verbrennung eines Teiles der Milchsäure zu Kohlendioxyd und Wasser die freiwerdende Energie erzeugt.

In dieser Abhandlung bleibt nur die erste Phase berücksichtigt.

Um die Kohlehydrate einem weiteren Abbau zugänglich zu machen, ist die Bindung an Phosphorsäure nötig, wobei nach LOHMANN die Adenosinphosphorsäure die Rolle eines Cofermentes spielt, nach den sicheren Ergebnissen von PARNAS (Klin. Wchschr. 14; 1935, 1017.) aber die Phosphorsäurereste auf das Glykogen überträgt. So kommt es über die Fruktosemono- zur Fruktosediphosphorsäure, die ein leicht abzubauender Körper ist.

1. Stufe:
   Hexosediphosphorsäure zerfällt in je 1 Molekül Glycerinaldehydphosphorsäure u. Dioxyacetonphosphorsäure nach vorausgehender intramolekularer Umlagerung eines Wasserstoffatoms.
2. Stufe:
   Die Dioxyacetonphosphorsäure wird zu Glycerinphosphorsäure reduziert, die Glycerinaldehydphosphorsäure zu Glycerinsäurephosphorsäure oxydiert, ein Beispiel einer Dismutation. Dieser Vorgang spielt bei Fermenten eine wesentliche Rolle.
3. Stufe:
   a.) Glycerinsäurephosphorsäure zerfällt nun auf fermentativem Wege in Brenztraubensäure und Phosphorsäure.
   b.) Die Glycerinphosphorsäure wird zum Wasserstoffdonator für Brenztraubensäure und damit selbst zu Glycerinaldehydphosphorsäure oxydiert, die dann wieder den eben

beschriebenen Abbauweg Glycerinsäurephosphorsäure—Brenztraubensäure—Milchsäure geht.

Bei der Glykolyse der Hefe (alkoholische Gärung) bleiben die Vorgänge Glukose—Brenztraubensäure gleich. Nur in der letzten Stufe unterliegt die Brenztraubensäure der Einwirkung des in der Hefe enthaltenen Karboxylasefermentes. Brenztraubensäure wird in Acetaldehyd $+CO_2$ zerlegt. Acetaldehyd wird zum Wasserstoffakzeptor und zum Endprodukt Aethylalkohol reduziert.

Einwirkung von Giften auf die Glykolyse.

Fluorid hindert die fermentative Spaltung in Stufe 3. a).

Ungehindert verlaufen also die Oxydoreduktionen, was für 2. deutlich, für 3 b) dadurch erwiesen ist:

Zugabe von Brenztraubensäure (deren primäre Bildung durch die Fluoridwirkung gehemmt ist) läßt die Oxydoreduktion 3 b) ungehemmt verlaufen.

Bromessigsäure: hemmt ausgesprochen die Oxydoreduktionen, ohne die fermentative Abspaltung zu stören.

Die besterforschte Gruppe stellen Glycerinphosphorsäure (Gl.PS.) und Glycerinsäurephosphorsäure (Gls.PS.) dar, deren biologische Darstellungsmethoden im folgenden dargetan werden sollen.

A. Glycerinphosphorsäure.

KARRER u. SALOMON sahen im Lecithin die Gl.PS. enthalten und isolierten durch fraktionierte Verseifung die gesuchten Stoffe von dem Fettsäure- und dem Cholinrest.

Methode:

Das Filtrat des mit Barytlauge verseiften Eilecithins wird mit Alkohol gefällt. In der eingedampften Mutterlauge befindet sich ein Sirup von glyc.phos.saur. Cholin, dessen konz. wässerige Lösung durch Zusatz von alkoh. Barytlauge ebenso wie im 1. Arbeitsgang rohes Ba.Salz der (α-, β-) Gl.PS. ausfallen läßt. Das biologisch wichtige α-Salz scheidet sich aus der verdünnten wässerigen Lösung rein ab. Aus der konzentrierten scheidet sich zum großenteil das β-Salz.

Eigenschaften:

Das β-Salz ist chem. deutlich verschieden vom α-Salz durch die ihm allein eigene Bildung von kristall. Doppelsalzen mit Ba.nitrat. Das

Ba-(α)Salz ist scheinbar optisch inaktiv; erst die Überführung in den Dimethylester des Dimethyläthers läßt eine opt. Aktivität erkennen:

$$[\alpha]_D = -2{,}63$$
$$= -3{,}28 \text{ (i. abs. Alkohol).}$$

KARRER gibt noch die Überführung ins Chininsalz an: 5 g glyc.phosphorsr. Ba, in kaltem Wasser gelöst und in siedende Lösung von 6,8 g Chininsulfat gegossen, bewirkt sofortige Umsetzung. Nach nochmaligem Sieden und Filtrieren durch einen Heißwasserfilter scheiden sich mit zunehmender Abkühlung schöne, weiße Kristalle in Nadelform ab. Die Kristalle werden nachgewaschen und im Vakuum getrocknet; mehrmaliges Umkristallisieren läßt einen konst. S.M.P. = 155° Cels. erreichen.

$$[\alpha]_D = -144^0 \text{ (im absoluten Alkohol).}$$

Rückverwandlung des Chininsalzes in das Ba-Salz:

7 g Chininsalz werden in der nötigen Menge heißen Wassers gelöst, dann konz. Barytlauge bis zur alkal. Reaktion tropfenweise hinzugefügt. Fällung des überschüssigen Baryts als Karbonat. Das Filtrat wird durch Ausschütteln mit Chloroform von Chinin befreit. Nach Einengen im Vakuum fällt auf Alkoholzusatz das Ba-Salz in ziemlich reiner Form aus. (Helvet. Chim. acta 9; 3—23, — 1926.)

Um nun die Gl.PS. aus dem glykolytischen Vorgang zu isolieren, bediente man sich der Giftwirkung des Fluorids.
Grundgedanke: Die Fluoridvergiftung des Muskels bewirkt eine Anhäufung von Gl.PS. und Gls.PS.
Methode nach EMBDEN u. ICKES (Hoppe-Seyler, Z. 230; 63, 1934).
Fluoridvergifteter Muskelbrei in Bikarbonatpuffer wird nach Zusatz von hexosediphosphorsaur. Na (als PS.-Spender) $4^1/_2$ Std. bei 11° digeriert. Nach Enteiweißung durch Trichloressigsäure (30%), Entfernung des anorgan. Phosphats durch Barytlauge und Einengung der durch Trichloressigsäure neutralisierten Flüssigkeit gelangt man zur Mutterlauge. Aus dieser, durch gesättigte Barytlösung alkalisiert, wird durch gesättigtes Bleiacetat ein reichlicher Niederschlag erzielt, der in wässeriger Lösung durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit und nach Ablüften des Schwefelwasserstoffes mit Natronlauge neutralisiert wird. Die nun folgende Fällung der Inosinsäure mit trichloressigsaurem Silber ist sehr wichtig, weil die Inosinsäure die Reinheit des Präparates am meisten stört (Kenn-

zeichen: reduziert Fehlingsche Lösg. und gibt Orcinreaktion). Aus der abfiltrierten Flüssigkeit gewonnener Bleiniederschlag wird zerlegt und die Zersetzungsflüssigkeit mit methylalkohol. Brucinlösung neutralisiert. Es folgt Auskristallisieren des Brucinsalzes. — Mit methylalkohol. Lösg. von essigsaurem Ba erzielt man Rückführung in das Ba-Salz.

Eigenschaften:

1. In kaltem Wasser leicht löslich, fällt beim Erwärmen wieder aus.
2. Doppelbrechung des polar. Lichtes.

Analyse:

a.) Ba — — — Phosphorbestimmung.

	—Ba—	—P—
ber:	44,70	10,08
gef:	45,56	9,99

b.) Glycerinbestimmung (n. Zeisel u. Fanto).
ber: 29,95: gef: 27,6
(hier ist zu berücksichtigen, daß die Methode eine Auswertung von 92% erreicht und somit eine genügende Genauigkeit durch Umrechnung festzustellen ist.)

Angaben über opt. Aktivität fehlen, anscheinend deswegen, weil das Ba-Salz opt. inaktiv ist und der früher beschriebenen Umwandlung unterworfen werden müßte.

Gleichzeitig mit EMBDEN erzielten MEYERHOFF u. KIESSLING eine Reindarstellung der Gl.PS. auf anderem Wege. (Biochem. Zeitschr. 264; 40, 1933.)
Hierbei wurde Sulfit mit seiner ketonbindenden Eigenschaft als Abfangmittel benützt ohne Vergiftung der Muskulatur.

Methode:

Bikarbonatgepufferter Kaninchenmuskelextrakt mit Zusätzen von Sulfit u. Hex. di. PS. wird nach 3 Std. Digestion (in -N-Atmosphäre bei 20°) mit Trichloressigsäure enteiweißt. Die folgende Barytfällung trennt einen Großteil der anorganischen Phosphate ab von der gesuchten leicht löslichen Gl.PS., die erst durch 80% Aethylalkohol gefällt und nach KARRER über das Chininsalz gereinigt und wieder in das Ba-Salz zurückverwandelt wird.

Eigenschaften:

1. gibt Glycerinreaktion mit Br und Codeinsulfat (Beweis für die α-Konstitution.)

2. gibt kein schwerlösliches Doppelsalz mit Ba-nitrat: dies als Beweis gegen die β-Stellung.

Analyse: $C_3 H_7 O_6 P Ba$

	C	H	Ba	P_2O_5	$\frac{Gl.}{P_2O_5}$	Gl.
ber:	11,71	2,30	44,69	23,10	1,30	29,95
gef:	11,60	2,56	44,26	22,49	1,32	29,68

$[\alpha]_D = -4{,}46.$

B. Darstellungsmethoden der Glycerinsäurephosphorsäure.

Als erste gelangten EMBDEN und DEUTIKE auf Grund folgender Tatsachen zur Isolierung einer opt. aktiven Gls.PS.

1. Kaninchenmuskulatur, mit Na-Laktat $\frac{m}{2}$ und Weizenstärke in Bikarbonatpuffer digeriert, läßt einen schwer hydrolysierbaren PS.-ester entstehen, dessen Ba-salz schön kristallisiert und in wässriger Lösung links dreht.
2. Die gleiche Verbindung entsteht unter der Einwirkung der „synthesebegünstigenden" Ionen Oxalat und Fluorid.
3. Zu den Versuchen zugesetztes Hexosediphosphat (statt Weizenstärke) erhöht die Ausbeute an Gls.PS. ganz wesentlich. Die Spaltung der phosphorylierten Hexose in Triosephosphat erfolgt also wahrscheinlich ohne vorherige Phosphatabspaltung. Gleichzeitig war dies wieder ein Beweis, daß Hexosedi-PS. ein Intermediärprodukt des Zuckerabbaus ist.

Methode:

Frischer Kaninchenmuskelbrei (1 kg in 5 Lit. $\frac{m}{2}$ d,l-Nalaktatlösung, + 0,4% Weizenstärke 4 Std. bei 12° unter Umrühren digeriert) zeigt einen deutlichen Schwund von anorgan. PS., die vermutlich zu einer organ. verbraucht wurde. Die durch Kupfersulfat-Kalkmilchfällung isolierten Kohlehydrat- und Phosphatbestandteile werden über das Bleisalz durch gesättigte Barytlösung in Ba-Salz übergeführt, bis die gesamte anorgan. PS. aufgebraucht ist. Der Ba-Phosphatniederschlag löst sich weitgehend auf. Der Rest ändert seine Konsistenz, nimmt an Masse zu und kristallisiert aus. Durch Nachwaschen mit Wasser, 80% Methylalkohol + Aceton gelangt man zu einer analysereinen Substanz, die vermehrt wird durch Versetzen des essigsauren Filtrates mit Aethylalkohol, wobei wieder die gleiche Substanz erzielt wird. Verluste entstehen bei dieser

Methode vor allem bei der Blei- und Kupfer-Kalkfällung, weshalb man später das Eiweiß mit Tricholoressigsäure fällte.

Eigenschaften:

Gls.PS. 1. reduziert nicht.
2. gibt keine Pentosereaktion.
3. enthält kein -N-.
4. enthält keinen anorgan. -P-.

Analyse:

$C_3H_5O_7P$: Ba + H_2O (= 1 Mol Kristallwasser)

	C	H	P	Ba
ber:	10,60	2,08	9,14	40,47
gef:	10,90	2,34	9,18	40,41

Eine absolute Wasserfreiheit der Substanz war nicht zu erzielen.

Optische Eigenschaften:

α_D = — 11,91 (freie Säure)
α_D = — 11,39 (tert. Na-Salz)
α_D = + 7,71 (sek. Na-Salz)
α_D = + 5,39 (wasserfrei. BaS)
α_D = + 5,10 (Basalz + 1 Mol H_2O)

Gleiche Ergebnisse wurden mit Oxalat- und Fluoridzusätzen erzielt. Die maximale Ausbeute ergab sich nach Hexosediphosphorsäurezusatz. (G. EMBDEN und H. I. DEUTIKE, Hoppe Seyl. 230; 3—27, 1934.)
Ein außerordentlich rationelles Verfahren fand NEUBERG mit VERCELLONE, das in seiner vereinfachten Form angegeben sei.

Ansatz:

700 ccm $\frac{2}{3}$ mol. Phosphatlösg. ph. 6, 6.
560 ccm 3% Hex. diphosphorsr. Na.
840 ccm 2% Acetaldehyd (Wasserstoffakzeptor)
560 ccm 20% Glukoselösg.
140 ccm 0,2 mol. Na-fluorid.
700 ccm frische untergärige Hefe.
70 ccm Toluol.

Verarbeitung:

Aus der durch Zentrifugieren abgetrennten Flüssigkeit wird in schwach alkal. Reaktion das anorg. Phosphat mit 20% Mg-acetatlösung gefällt. Nach Neutralisation mit Essigsäure fällt durch Zu-

gabe von 370 ccm Eisessig und 175 ccm 50% Ba-acetatlösung rasch ein flockiger Niederschlag aus, der abfiltriert wird. Aus der Lösung fällt nach Anreiben und Abkühlung das kristallisierte Ba-Salz der Gls.PS. aus. Aus dem Filtrat fällt durch Versetzen mit absolutem Alkohol ein Niederschlag. Zugabe von 2-n Salzsäure löst einen größeren Teil des Rückstandes. (Der ungelöste ist tert. Ba-Salz.) Dieser kristallisiert in schwach kongosaurer Lösung aus und erhöht die Ausbeute, die aus beiden Fällungen etwa 45 g beträgt, bedeutend.

1936 stellten A. HAHN, OTTAWA und MEHLER Gls.PS. und Gl.PS. aus Hefe dar.

Diese Methode folgt für die Isolierung der Gls.PS. den Vorschriften NEUBERGs und VERCELLONEs, für die der Gl.PS. den Versuchen KARRERs. Wertvoll und neuartig an dieser Methode ist die Gewinnung beider Stoffe in einem Arbeitsgang aus billigem Ausgangsmaterial mit befriedigender Ausbeute, sowie vor allem die 1. Darstellung der Gl.PS. aus Hefe überhaupt.

Der Ansatz ist der in vor hergehender Arbeit beschriebene. (Es wurde das doppelte Quantum verarbeitet.)

Das Hex. diphosphorsaure Na- wurde aus billigem Ca-Salz durch Fällung des Ca- als Oxalat und Neutralisierung des Filtrates durch Na-OH hergestellt.

In die auf 37° vorgewärmten Lösungen wird Hefe eingerührt und 3 Std. bei 37° digeriert. Nach Abzentrifugieren der Hefe und Filtrieren der überstehenden Flüssigkeit beginnt die Verarbeitung, die hier im Original angeführt sei:

1. Schema der Aufarbeitung.

Zusatz von Mg-acetat bei ammoniak. Reaktion.

Ausfallen der anorg. Phosphate.

Filtrat hiervon mit Bleiacetat bei essigsr. Reaktion versetzt.

Ausfallen der Bleisalze von Gls.PS. u. Gl.PS.

Zersetzung des Bleisalzes mit H_2S. Vom Bleisulfid abfiltriert. Filtrat hiervon bei essigsaurer Reaktion mit Ba-acetat versetzt.

Ausfallen des sauren Ba-Salzes der Gl.PS.

Filtrat hiervon mit Bleiacetat versetzt.

Ausfallen des Bleisalzes der Gls.PS.

Zersetzung des Bleiniederschlags mit H_2S. Vom Bleisulfid abfiltriert. Filtrat neutralisiert. Versetzt mit Chininhydrochlorid.

Ausfallen des Chinin-Salzes der Gl.PS.

2. Vorschrift der Aufarbeitung.

Im einzelnen gestaltet sich die Aufarbeitung folgendermaßen:

Das toluolfreie Filtrat wird bis zur schwach alkal. Reaktion gegen Lakmuspapier mit Ammoniak versetzt. Dann gibt man soviel konz. Mg-acetatlösung dazu, bis die Ausfällung der anorgan. Phosphate als Mg-Ammonphosphat eine vollständige ist, was man in einer kleinen abfiltrierten Probe feststellt. Nach Beendigung der Ausfällung muß das Filtrat noch schwach alkal. reagieren.

Nach Abfiltrieren des Niederschlages säuert man das Filtrat mit Eisessig an und versetzt es mit einer konz. Lösung von Blei-acetat. Auch hier überzeugt man sich in einer abfiltrierten Probe von der Vollständigkeit der Fällung. Der Niederschlag besteht aus den Bleisalzen der Gls.PS. und der Gl.PS.

Das Bleisalz wird zunächst auf einem großen Faltenfilter abfiltriert. Dann wird es dadurch mit Wasser ausgewaschen, daß man es nach Durchstoßen des Filters, mit Wasser in einen großen Kolben spült und mit reichlich Wasser aufschlemmt. Man saugt es auf einer Nutsche ab und wäscht auf dieser nochmals mit Wasser aus. Dann bringt man den Niederschlag in eine Saugflasche von $1^1/_2$ Liter Inhalt, gibt etwa 1000 ccm Wasser hinzu und schüttelt so lange auf der Schüttelmaschine, bis eine homogene Suspension aufgetreten ist. Dann wird das Blei-salz mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Vom entstandenen Blei-sulfid wird abfiltriert. Der Niederschlag wird mit Wasser mehrmals auf dem Filter ausgewaschen. (Sollte das Filtrat etwas kolloidales Blei-sulfid enthalten, so fügt man einige ccm Blei-acetatlösg. hinzu und sättigt nochmals mit Schwefelwasserstoff. Beim Filtrieren läuft das Filtrat stets klar durch.) Filtrat und Waschwasser werden in eine große Gaswaschflasche gefüllt und durch Luftdurchleiten vom gelösten H_2S befreit. Dies soll tunlichst sofort geschehen, damit sich beim Filtrat kein Schwefel ausscheidet. Zum Filtrat werden 500 ccm Eisessig und 300 ccm einem 50% Lösung von Ba-acetat zugesetzt. Bei Reiben mit dem Glasstab an den Wänden des Stutzens fällt das saure Ba-salz der Gls.PS. in schönen Kristallen aus. Nach Stehen über Nacht im Eisschrank wird seine Ausscheidung vollständig. Man saugt das Salz ab und wäscht mit Wasser nach.

In der Mutterlauge ist die Gl.PS. enthalten. Zu deren Ausfällung als Bleisalz setzt man zur Lösung so lange konz. Blei-acetatlösung, bis die Ausfällung vollständig ist. Der auf einem großen Faltenfilter abfiltierte Niederschlag wird in einem großen Kolben gespült, mit reichlich Wasser aufgeschwemmt, abgesaugt und nochmals auf der Nutsche mit Wasser gewaschen. Nun wird das Bleisalz in einer Liter-Saugflasche mit H_2S versetzt und das gebildete Bleisulfid abfiltriert. Man wäscht letzteres auf dem Filter mit Wasser und entfernt aus der Flüssigkeit den H_2S durch Luftdurchleiten. Die klare, sauer reagierende Flüssigkeit wird mit 10% Natronlauge gegen Lakmus genau neutralisiert. Jetzt fällt man das Chininsalz der Gl. PS. aus, indem man eine Lösung von 75 g Chininhydrochlorid in 2700 ccm Wasser zugibt. Das Salz beginnt sofort auszukristallisieren. Nach Stehen über Nacht im Eisschrank saugt man es auf der Nutsche ab und wäscht mehrmals mit Wasser aus.

3. Ausbeuten.

In 2 Ansätzen wurden folgende Ausbeuten erhalten:

Saures Ba-salz der Gls.PS.: 29 g bzw. 34 g
Chinin-salz der Gl.PS. : 57 g bzw. 73 g

Theoretisch müßten von beiden Salzen äquivalente Mengen gefunden werden, und zwar auf 1 g Ba-salz 2,33 g Chinin-salz. Die Ausbeute am letzteren ist etwas geringer.

4. Umkristallisieren der Rohprodukte.

Das Umkristallisieren des Ba-salzes der Gls.PS. erfolgte nach den Angaben von LEHNARTZ (Hoppe, S. 230; 90, 1934.)
Das Chinin-salz der Gl.PS. wird aus siedendem Wasser umkristallisiert, wobei zu beachten ist, daß die Substanz dem siedenden Wasser zugesetzt wird und daß die Lösung nicht zu lange erhitzt wird, damit keine Zersetzung eintritt.

5. Analyt. Daten.

a.) Saures Ba-salz der Gls.PS.

Opt. Drehung eines im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° getrockneten Präparates:

$D = -11{,}84^0$.

LEHNARTZ fand den Wert —11,30°, während NEUBERG den Wert —13,75° angibt.

b.) Chinin-salz der Gl.PS.
Die Substanz war bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet worden. S.P. = 150° (KARRER: 155°).

I. 3,316 mg Subst. 0,195 N. (735 mm; 25°) Gef: 6,67% N.
2,895 mg Subst. 0,174 N. (755 mm; 25°) Gef: 6,84% N.
$(C_{20}H_{24}N_2O)_2C_3H_9O_6P$ (820) Ber: 6,78% N.

S.P. = 152° (KARRER 155°)

Optische Drehung:

Als Lösungsmittel diente absol. Alkohol. Benützt wurde ein 4 cm Rohr.

I. $D = -141^0{,}4$.

II. $D = -141^0{,}0$.

KARRER findet $D = -144{,}7$.

Die Löslichkeit des Chininsalzes ist 0,053 g in Wasser bei 20°.

Die erste Darstellung der **Brenztraubensäure** (BTS) im Muskel gelang A. HAHN, E. FISCHBACH und W. HAARMANN. (Zeitschr. f. Biologie 88; 516, 1928.)
Die Autoren verarbeiten 300 g Muskelbrei mit und ohne Zusatz von Laktat, mit und ohne Methylenblau als Wasserstoffakzeptor, im Vakuum. Zum Abfangen der gesuchten BTS wurde nach den Angaben KOSTYTSCHEWs Semicarbacid zugesetzt, nach Zerlegung des gebildeten BTS-Semicarbazons mit 50% Schwefelsäure die BTS in das Hydrazon übergeführt, das eindeutig durch Schmelzpunkt und Analyse charakterisiert ist.

Man kam zu folgenden Ergebnissen:

BTS entsteht im Muskel auch ohne Laktat und Methylenblauzusatz. Laktat vermehrt die Ausbeute. Es mußte eine spez. Milchsäuredehydrase im Muskel angenommen werden. Die im zusatzfreien Versuch erzielten BTS-Ausbeuten wurden damals als muskeleigene Milchsäure gedeutet, was heute durch die EMBDENschen Versuche richtiggestellt ist, dahingehend, daß Gls.PS. H_3PO_4 abspaltet und auf diese Weise BTS als Vorstufe der Milchsäure entsteht.

C. Darstellung der Dioxyaceton-PS. als Sulfit- und Ba-Verbindung durch O. MEYERHOF und K. LOHMANN.

Die Umsetzung Hex.di.PS. ———— Dioxyaceton-PS, klärten LOHMANN und MEYERHOF als ein echtes Gleichgewicht auf. Sie würde durch die Einwirkung des neuendeckten Zellferments „Zymohexase" gefördert. Um nun eine Isolierung der Dioxyaceton-PS. zu ermöglichen, mußten Bedingungen gefunden werden, die einerseits das Gleichgewicht zugunsten der Dioxyaceton-PS. verschieben, andererseits die leichte Zersetzbarkeit dieses Stoffes berücksichtigen. Als Abfangmittel wurde Bisulfit benützt.
Der Umsatz Hex.di-PS. ———— Dioxyaceton-PS. ist nur bei mehrfachem Überschuß von Bi-sulfit ein hochprozentiger. Die durch diesen Überschuß bedingte Säurekonzentration verlangsamt aber ihrerseits wieder den Umsatz. Eine Reaktionstemperatur von 60° Cels. bringt das Optimum an Schnelligkeit und Vollständigkeit der Umsetzung. Stets muß man in schwach saurer Reaktion von etwa ph = 6,5 arbeiten, da Dioxyaceton-PS. schon in schwach alkal. Lösg. gespalten wird.

Methode:

In eine Lösung von (20 ccm 2,6% Bicarb. + 80 ccm 6% Na-hex.-diphosphat + 140 ccm 0,5 mol. Bisulfit + 60 ccm Wasser) auf 65°

angewärmt wird 10 Std. lang dialisierter Kaninchenmuskelextrakt (100 ccm) eingerührt. Nach 5 Min. Einwirkungszeit bei 60° und Enteiweißung mit 40% Trichloressigsäure wird die abfiltrierte Flüssigkeit in Eis abgekühlt.
Unter stärkstem Rühren erfolgt Neutralisation mit 30% Na-OH, wobei ph = 6,5 nicht überschritten werden darf. Durch Ca-oxalat (Ca- = 5 g) fällt der Sulfitüberschuß aus. Zusatz von Alkohol fällt einen Niederschlag von Ca-bisulfit + Dioxyaceton-bisulfit und nicht alkaliverseifbarem P (= Hex.di.PS.). Langsamer Zusatz von Alkohol zur abfiltrierten Flüssigkeit läßt mikrosk. Drusen auskristallisieren, die ein Doppelsalz aus Ca-bisulfit und Ca-dioxyacetonbisulfit darstellen. Man wäscht die Niederschläge in schwach sauer Lösung und trocknet in Alkohol-Äther und über Schwefelsäure. Die Bisulfitverbindung ist im Gegensatz zu Dioxyaceton-Erdalkalisalzen gut haltbar.

Überführung in das Ba-salz:

Aus der Lösung der Bisulfitverbindung in HCl (schwach kongosauer) wird das Ca- als Oxalat gefällt, das Sulfit mit Jodlösung zu Sulfat oxydiert. Dann in lakmusalkal. Reaktion Zurücktitration des Jodüberschusses. Das Filtrat wird mit Ba-acetat versetzt, nochmalige Filtration. Auf Zusatz von Alkohol fällt dann die gesuchte Substanz aus. Die Reinigung erfolgt wie oben angegeben.

Analyse:

Anorg. P_2O_5 = 0,205 mg.
Org. P = 2,50 mg, davon 2.305 mg alkaliverseifbar; entspricht = 2,92 mg Triose

Milchsäureausbeute: 3,10 mg

Methylglyoxal nach Säurehydrolyse 2,55 mg = 3,23 Triose.

Zu erwähnen wäre noch die rein synthetische Darstellung der Glycerinaldehyd-PS. aus dem Benzyl-cycloacetat des Glycerinaldehyds, die jedoch zu einem opt. inaktiven Produkt führt. H. FISCHER u. E. BAER, Bioch. Z. 65; 337, 1932.)
Diese letzten Präparate sind nur im trockenen Zustande haltbar. Sie haben alle den Mangel der Unreinheit.

Literaturnachweis.

G. EMBDEN u. ICKES: Hoppe-Seyler Z. 230, 63, 1934.
G. EMBDEN u. DEUTICKE: Hoppe-Seyler Z. 230; 3—27, 1934.
AM. HAHN, OTTAWA u. MEHLER: Z. für Biologie 97; 173, 1936.
AM. HAHN, E. FISCHBACH u. HAARMANN: Z. f. Biologie 88; 516, 1928.
KARRER u. SALOMON: Helv. Chim. acta 9; 3—23, 1926.
MEYERHOFF u. KIESSLIENG: Bioch. Z. 264; 40, 1933.
C. NEUBERG u. VERCELLONE: Bioch. Z. 280; 161, 1935.

Lebenslauf.

Am 14. Dezember 1910 wurde ich, Anton Stieß, in Langenbruck als Sohn des Lehrers Anton Stieß und seiner Ehefrau Josephine, geb. Kufer, geboren. Ostern 1930 erhielt ich am Ludwigs-Gymnasium in München das Reifezeugnis. Dann widmete ich mich an der Universität München dem Studium der Medizin. Weihnachten 1935 bestand ich das ärztliche Staatsexamen. Mit dem 30. XII. 1936 erhielt ich die Bestallung als Arzt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Hahn für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. Ottawa für seine Unterstützung bei der Ausarbeitung herzlich zu danken.